Aus der I. medizinischen Universitätsklinik München
(Direktor: Prof. Dr. W. Stepp)

# Die praktische Durchführung von Kohlenstoffbestimmungen in biologischen Flüssigkeiten.

★

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und einer
Hohen medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

**Hartwig Boldt**
aus Münster in Westfalen.

1940

BUCH- UND WERBEDRUCKEREI / BUCHBINDEREI UND VERLAG
GUSTAV LINDNER / MÜNCHEN 58

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Dekan:
Prof. Dr. A. Dabelow

Referent:
Prof. Dr. W. Stepp

Tag der Promotion:
21. Dezember 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

## INHALTSVERZEICHNIS.


I. Einleitung . . . . . 5

II. Aeltere Verfahren zur Bestimmung von Kohlenstoff in biologischen Flüssigkeiten . . . . . 11

III. Die von uns ausgearbeitete Methode:

1. Prinzip . . . . . 17
2. Die Apparatur . . . . . 17
3. Gang der C-Bestimmung:
   a) Vorarbeiten . . . . . 22
   b) Verbrennung . . . . . 26
   c) Auffüllen der Absorptionsgefäße . . . . . 27
   d) Titration . . . . . 28

IV. Analysenergebnisse:

1. Oxalsäure . . . . . 30
2. Rest-Kohlenstoff und Harn-Kohlenstoff . . . . . 31
3. C:N-Quotienten . . . . . 33

V. Vergleichende Betrachtung:
Vorzüge der umgestalteten Methode gegenüber dem Verfahren von Lauersen und Voit . . . . . 35

VI. Zusammenfassung . . . . . 38

Literaturverzeichnis . . . . . 39

# I. Einleitung.

Die Stoffwechseluntersuchungen der Stepp'schen Klinik haben insonderheit den intermediären Fett- und Kohlehydratstoffwechsel zum Gegenstande. Die Probleme, die sich hier ergeben, sind derart vielfältig, daß es sich als notwendig erwiesen hat, einzelne Forschungsgebiete abzuteilen und diese nun systematisch zu bearbeiten. So ist es der Stepp'schen Schule im Laufe der Jahre gelungen, auf dem Gebiete der Blutchemie aus dem Gesamtblute einzelne Fraktionen weitgehend aufzuklären, z. B. die Acetonkörper, die Milchsäure, den Gesamtstickstoff, den Reststickstoff und mittels verschiedener Spezialmethoden auch den Rest-Kohlenstoff.

Ebenfalls aus Gründen einer zweckmäßigen Begrenzung der Problemstellung ist die Frage der Kohlenstoff-Ausscheidung durch die Nieren herausgegriffen worden, zumal zu erwarten stand, daß aus dem Studium des Verhältnisses von C : N im 24-Stunden-Urin tiefere Einblicke in die Vorgänge des Zwischenstoffwechsels zu gewinnen sein würden.

Was den Begriff „Rest-C" anbelangt, so ist darunter in Analogie zum „Rest-N" nach Stepp derjenige Kohlenstoff zu verstehen, der im Blutfiltrat nach völliger Entfernung der Eiweißkörper verbleibt; er stellt somit den Kohlenstoff derjenigen organischen Substanzen des Blutes dar, die mit Phosphorwolframsäure nicht fällbar sind. Es muß dabei von vorneherein beachtet werden, daß man es hier mit einem summarischen Begriffe zu tun hat, sind doch an der Zusammensetzung des Rest-C beteiligt nicht bloß der Kohlenstoff

der Glukose, der Acetonkörper und der Milchsäure, sondern auch derjenige der N-haltigen Substanzen, wie der Aminosäuren, des Harnstoffs, des Kreatins, der Harnsäure. Bei Würdigung dieser Tatsache darf also nie — wie es Stepp erst unlängst gegenüber Einwänden von Ruppert erneut klargestellt hat — die Ermittlung des Restkohlenstoffs als Selbstzweck aufgefaßt werden, vielmehr liegt hier das Forschungsziel in der möglichst weitgehenden Aufteilung des summarisch erhaltenen Kohlenstoffwertes zum Zwecke einer vollständigen Erfassung der organischen Einzelsubstanzen des Blutes auf analytischem Wege.

Auch für die Beurteilung des C:Quotienten muß vorangestellt werden, daß es sich hier um einen Komplexbegriff handelt. Die Komponenten dieses Quotienten bilden in der Hauptsache die Abbauprodukte des Kohlehydrat-, Fett- und Eiweißstoffwechsels. Als C-Träger wirken dabei zusammen die verschiedenen organischen Harnbestandteile, also Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Hippursäure, dazu noch in pathologischen Fällen die Glukose, die Acetonkörper, die Milchsäure, Aminosäuren (Leucin und Tyrosin), Gallensäuren usw.

Aus dem Verhältnis zwischen dem Kohlenstoff und dem Stickstoff, soweit sie durch den Harn ausgeschieden werden, errechnet sich ein bestimmter Zahlenwert, der damit einen Maßstab für die Oxydationslage des Körpers darstellt. Der Durchschnittswert für den C:N-Quotienten beim Normalen wird in der Literatur mit ca. 0,85 angegeben. Gefunden wird dieser Wert auf dem Wege, daß man den Gesamtkohlenstoff- und den Gesamtstickstoffgehalt des 24-Stunden-Urins durch Elementaranalyse bestimmt und daraus den Quotienten nimmt.

Versuchen wir aber, aus den einzelnen organischen Harnsubstanzen, soweit sie exakt erfaßbar sind, jeweils den C- und N-Gehalt zusammenzurechnen und daraus den Quotienten aufzustellen, so finden wir, daß dieser dann bedeutend niedriger ausfällt. Wir haben dabei auszugehen von den vier bekannten Substanzen: Harn-

stoff, Kreatinin, Harnsäure und Hippursäure; davon finden wir im 24-Stunden-Urin des gesunden Erwachsenen:

| | mittlere Konzentration g | Gehalt an C g | Gehalt an N g | C:N |
|---|---|---|---|---|
| Harnstoff | 30,0 | 6,0 | 13,8 | 12:28 = 0,428 |
| Kreatinin | 1,3 | 0,56 | 0,48 | 48:42 = 1,14 |
| Harnsäure | 0,7 | 0,25 | 0,23 | 60:56 = 1,07 |
| Hippursäure | 0,7 | 0,42 | 0,056 | 108:14 = 7,71 |
| | | 7,23 | 14,566 | |

Unter Zugrundelegung der mittleren Konzentration dieser Stoffe läßt sich daraus, wie ersichtlich, im ganzen ein C-Gehalt von 7,23 g und ein N-Gehalt von 14,57 feststellen; der Quotient daraus ergibt: 0,49.

Dem gegenüber errechnet sich der Quotient 0,85 beispielsweise aus einem analytisch gefundenen Gesamt-C-Gehalt von 12,79 g und einem Gesamt-N-Gehalt von 14,85 g.

Vergleicht man damit die Werte für C und N, wie sie sich aus den oben angeführten Einzelsubstanzen zusammenrechnen, so erkennt man, daß auf der N-Seite der Wert fast gedeckt ist, während für C ein ungedeckter Anteil von 5,56 g offen bleibt.

Bei dieser Berechnung ist sogar noch die Einschränkung zu machen, daß der Wert für Kratinin nur mit Vorbehalt verwendet werden darf, weil seine Bestimmung — als Maßstab dient lediglich die Umsetzung mit Pikrinsäure — keine spezifische Methode darstellt.

Es hat nicht an Bemühungen gefehlt, den verhältnismäßig hohen ungedeckten C-Anteil durch Einrechnung noch weiterer analytisch ermittelter Daten für verschiedene Sustanzen zu verkleinern. Nun sind aber leider die Bestimmungsmethoden, die für die Ermittlung dieser Werte angewandt wurden, vielfach nicht spezifisch bzw. nicht einwandfrei, da es sich dabei in der Regel nur um Gruppenreaktionen handelt. Unter diesen Umständen müssen alle auf solche Weise ge-

fundenen Werte als durchaus fragwürdig bezeichnet werden. Dann aber läßt eine einfache Ueberlegung erkennen, daß ein derartiges Operieren mit letzten Endes nur neuen Unbekannten nicht nur nutzlos ist, sondern geradezu verhängnisvoll werden kann, insofern nämlich, als man bei derartigem Vorgehen, z. B. in pathologischen Fällen, die wahre Ursache einer Veränderung des C:N-Quotienten gar nicht findet, da sie vielleicht gerade in diesen Werten liegen könnte, die man aber — voreingenommen — auf Grund von Analogieschlüssen als unverändert betrachtet.

Von diesem Gesichtspunkte aus sind somit Berechnungsweisen, wie sie z. B. Pregl und nach ihm Kurt Voit vorbringen, nur mit Vorbehalt anzusehen. Diese Autoren gehen nämlich so vor, daß sie für alle möglichen, zum Teil noch keineswegs wohldefinierten Substanzen, wie niedere Fettsäuren, aromatische Oxysäuren, Aldehyde, Harnfarbstoffe usw. summa summarum einen C-Wert von 2,5 g festsetzen, obwohl sie gleichzeitig zugeben, daß er sich aus denjenigen kohlenstoffhaltigen Stoffen errechnet, „deren genauere quantitativen Ausscheidungsverhältnisse nicht ohne weiteres oder nur schwierig zu ermitteln sind".

Die gleichen Ueberlegungen führen bei der Nachprüfung der Rest-Kohlenstoffberechnung zu mancherlei Vorbehalten. Als Beispiel möge hier ein Schema von Diehl Platz finden, der die Aufteilung des Rest-Kohlenstoffs normaler Individuen in folgender Weise annimmt:

| | mg C |
|---|---|
| Amino-N | 45 |
| Glukose | 40 |
| Hydrolisierbare Substanz als Glukose berechnet | 32 |
| Harnstoff-N | 6 |
| Milchsäure | 4 |
| Gesamtphenole | 2 |
| Imidazolderivate | 1 |
| | 130 |
| Rest-C im Mittel | 184 |
| Unbekannter Rest-C | 54 |

Hiergegen müssen vom Standpunkte des unvoreingenommenen Analytikers aus ebenfalls gewisse Bedenken geltend gemacht werden. So ist es nicht ohne weiteres zulässig, auf die sogen. „hydrolysierbare Substanz" einen Wert von 32,0 mg, als Glukose berechnet, entfallen zu lassen; dafür sind Begriffe wie „hydrolysierbare Substanz", „gebundener Zucker" usw. noch viel zu wenig erforscht. Sicher festgestellt ist bisher nur, daß sich bei Durchführung der sogen. „fraktionierten Hydrolyse" zeigen läßt (Diehl und Lauersen), es müsse sich hier um ein mehr oder minder verwickeltes Gemisch von Substanzen handeln, denen nur die reduzierende Wirkung gemeinsam ist und deren Wert man zahlenmäßig durch Glukoseäquivalente zum Ausdruck bringt. Wenn man aber demnach weiß, daß man es hier mit einer komplexen Stoffgruppe zu tun hat, dürfte man kaum berechtigt sein, für Stoffe, deren chemischen Charakter man noch gar nicht kennt, einfach den Kohlenstoffanteil der Glukose bei der Berechnung zugrunde zu legen.

Aehnliche Bedenken sind gegen den Aminosäurewert anzuführen, der zahlenmäßig in dem zitierten Aufteilungsversuche sogar den Hauptanteil ausmacht, indem er mit 45 mg C über den Glukose-C mit 40 mg hinausgeht. Auch gegen diese Einrechnung wäre einzuwenden, daß man doch wohl nicht ganz unberücksichtigt lassen kann, daß es sich hier ebenfall sum einen Zahlenwert handelt, der nicht auf rein analytischem Wege errechnet wird. Man hat nämlich den Kohlenstoffanteil der $NH_2$-Gruppe lediglich auf die Weise erfaßt, daß man sich eines empirischen Umrechnungsfaktors bedient, der aus dem C:N-Quotienten derjenigen Substanzen errechnet wird, die zusammen den Aminosäurekomplex bilden, ein Verfahren, das wieder eine ganze Reihe von Einzelbestimmungen zur Voraussetzung hat.

Zusammenfassend ergibt sich so aus dem derzeitigen Stande der Kohlenstoff-Forschung ein wichtiger Hinweis: So verlockend zunächst der Gedanke schien, mit Hilfe von C- und N-Bestimmungen im Harn und mit Rest-C-Untersuchungen des Blutes Licht zu bringen in die Zusammenhänge des Intermediärstoffwechsels, so läßt sich jetzt bei Anwendung der nötigen Kritik die Erkenntnis nicht von der

Hand weisen, daß man sich den Weg offenbar zu leicht vorgestellt hat. Alles in allem genommen, erscheint es augenblicklich noch etwas voreilig, schon jetzt an den ungedeckten Anteil heranzugehen, nämlich solange man noch nicht einmal durchweg einwandfreie Bestimmungsverfahren für die Substanzen des gedeckten Anteils zur Verfügung hat.

Um hier weiterzukommen, wird man demnach einen anderen Weg einschlagen müssen. Es gilt, zunächst eine ganz sichere Grundlage zu schaffen, von der aus man schrittweise an die Erforschung der einzelnen Substanzen herangehen kann. Man wird also systematisch auf der einen Seite die Schwankungsbreite der mittleren Konzentration der normalen und pathologischen Stoffwechselkomponenten im einzelnen festzulegen haben und auf der anderen Seite für eine genaue Erfassung der Gesamt-C-Menge in Harn und Blut auf breitester Grundlage Sorge tragen müssen.

Brauchbare Wege zur Aufklärung einer ganzen Reihe von Intermediärstoffwechselprodukten sind in jüngster Zeit namentlich von Lauersen angegeben worden; so ist es jetzt mittels einer Destillationsapparatur möglich geworden, Aceton, β-Oxybuttersäure, Milchsäure, Gesamt-N, Harnstoff-N und Aminosäuren-N mit aller wünschenswerten Genauigkeit in einem verhältnismäßig kurzen Arbeitsgange zu erfassen.

Zweck der folgenden Ausführungen soll es nun sein, ein Verfahren darzulegen, mit Hilfe dessen auch die andere oben genannte Voraussetzung in weitem Umfange zu verwirklichen ist, nämlich eine denkbar einfach gestaltete und somit praktisch durchführbare Methode zur Kohlenstoffbestimmung in biologischen Flüssigkeiten.

## II. Aeltere Verfahren zur Bestimmung von Kohlenstoff in biologischen Flüssikeiten.

Welches sind die Anforderungen, die insbesondere der Kliniker an eine solche Methode zu stellen hat, wenn sie für seine Zwecke brauchbar sein soll? Sie darf nicht zu lange Zeit in Anspruch nehmen, soll dabei exakte Werte liefern, auf jedwede physiologische Flüssigkeit anwendbar und in der Ausführung so einfach gehalten sein, daß auch Leute von minderer experimenteller Befähigung, also Hilfspersonen, wie Laboranten, technische Assistentinnen usw., in der Lage sind, mit ihr zu arbeiten.

Es ist klar, daß ein Verfahren, welches allen diesen Forderungen gerecht wird, erst aus den Erfahrungen langer Jahre heraus entwickelt werden konnte. Der Problemstellung entsprechend beschäftigen wir uns im folgenden Abschnitte lediglich mit der Entwicklung der Methoden für Kohlenstoffbestimmung in biologischem Material.

Man hat früher versucht, eine Kohlenstoffbestimmung mittels der kalorimetrischen Bombe auszuführen. Abgesehen von dem Umstande, daß diese Methode sehr viel Zeit und eine keineswegs einfache Apparatur beansprucht, weist das Verfahren zwei beträchtliche Mängel auf: einmal ist es sehr schwer, die anderen Oxydationsprodukte, wie Schwefeldioxyd, Stickoxyde usw. abzutrennen, außerdem wird die Berechnung doch sehr beeinträchtigt dadurch, daß der C-Gehalt der Celluloseblöckchen, in denen der aufgeträufelte Harn eingetrocknet wird, zu der minimalen C-Menge des Harns in einem so groben Mißverhältnis steht, daß daraus von vornherein eine nicht unerhebliche Fehlerquelle hervorgehen muß.

Im Laufe der Zeit sind weitere Methoden in großer Zahl ausgearbeitet worden, teils auf Harn-, teils auf Blut-C-Erfassung abgestellt, teils als Makro-, teils als Mikromethoden, im Prinzip hauptsächlich darnach unterscheidbar, ob die Kohlenstoffbestimmung auf dem Wege über eine nasse oder eine trockene Veraschung erfolgt. Aus dieser Vielzahl von Vorschlägen bzw. Modifikationen derselben kann man schon darauf schließen, daß im Grunde genommen keine von allen bisher hat richtig befriedigen können.

Als Stepp vor Jahrzehnten die Frage des Rest-C — von Hofmeister 1910 in Analogie zum Rest-N angeschnitten — aufgriff und seine ersten klassischen Untersuchungen zum Blut-Rest-Kohlenstoff-Problem in Angriff nahm, arbeitete er zunächst mit der Methode von Messinger, modifiziert von Mancini, einem Makroverfahren zur C-Bestimmung auf nassem Wege. Im Prinzip handelte es sich dabei um eine Verbrennung der organischen Substanz mit Kaliumbichromatschwefelsäure und Absorption der gebildeten Kohlensäure in Natronkalk und gravimetrische Ermittlung der gebundenen Kohlensäure. Von Stepp wurde zu dieser Methode eine eigene Modifikation mit genauen Richtlinien betreffs Apparatur und Reagentien angegeben. Gleichwohl blieb der Nachteil der Makromethode bestehen, daß man größere Mengen Blutes benötigte und somit schwer an ein und demselben Patienten häufige Bestimmungen vornehmen konnte, noch dazu, wenn man außerdem Blut für gleichzeitige Bestimmungen zahlreicher anderer Substanzen entnehmen wollte.

Stepp ging deswegen dazu über, ein Mikroverfahren für die Zwecke der Rest-C-Erforschung auszuarbeiten, und zwar griff er dazu auf den Mikroverbrennungsapparat von Pregl zurück. Nach Beseitigung vieler Schwierigkeiten konnte im Jahre 1929 Stepp und Sauer eine Methodik der Mikrobestimmung menschlichen Blut-Rest-Kohlenstoffs veröffentlichen, mittels deren nun auch Reihenversuche im größeren Stil durchführbar waren.

Die Kohlenstoffbestimmung erfolgte hierbei auf trockenem Wege, das Prinzip war eine Verbrennung der organischen Substanz im Sauerstoffstrom im Pregl'schen Kupferoxydbleichromatrohr, sodann auch hier Absorption der entstehenden Kohlensäure im Natronkalk und Ermittlung des C-Gehaltes durch Wägung des Natronkalkröhrchens. Das Abfangen des Wassers, welches im Gegensatz zum nassen Verfahren hier vollständig mit übergetrieben wurde, konnte in der Form bewerkstelligt werden, daß es nur zum kleineren Teile in Calciumchlorid absorbiert, zu etwa $^9/_{10}$ dagegen bereits zuvor innerhalb einer vorgeschalteten Glaskugel (nach Stepp) kondensiert wurde.

Auf diese Weise war es Stepp gelungen, auch bei Anwendung einer Mikromethode die Möglichkeit beizubehalten, sämtliche leicht flüchtigen Substanzen zu erfassen. Hieran lag der ganz besondere Vorzug gegenüber einem anderen Mikroverfahren und seinen Modifikationen, die unter den Namen Nicloux, Boivin, Roche, Ruppert, Osuka veröffentlicht worden sind. Bei diesen Verfahren erfolgt nämlich die Beseitigung der störenden Wassermenge in der Form, daß vor der Verbrennung eine Einengung der Filtrate im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure stattfinden muß. Es ist klar, daß eine derartige Einengung nur auf Kosten der flüchtigen Substanzen möglich ist. Gerade der Kliniker aber, der den Zwischenstoffwechsel unter pathologischen Bedingungen studieren will, kann auf die quantitative Erfassung auch der flüchtigen Substanzen nicht verzichten; es sei hier in diesem Zusammenhange nur an die Rolle der Acetonkörper beim Diabetes mellitus erinnert!

Ein weiteres Mikroverfahren ist von Lieb und Krainick angegeben worden. Diese Autoren lassen einer nassen Veraschung noch eine trockene folgen und benötigen daher eine recht komplizierte Apparatur. Aus diesem Grund dürften sich der allgemeinen Einführung in die Klinik gewisse Schwierigkeiten entgegenstellen.

Wie oben dargelegt, war der Grund, weswegen man an der Stepp'schen Klinik von der Makromethode mittels feuchter zur Mikromethode mittels trockener Veraschung übergegangen war, nicht eigentlich in der Methode selbst gelegen gewesen, sondern in der mehr äußerlich begründeten Schwierigkeit, die sich aus der Beschaffung größerer Blutmengen ergeben hatte. Für Harn-Kohlenstoffbestimmungen behielt man noch im Prinzip das Messinger-Verfahren bei, nachdem es in der Modifikationsreihe Mancini — Stepp — Deutschberger — Gomez — Meyer — Bisch und Kühn — C. G. L. Wolff durch K. Voit erneut abgeändert worden war. In der Folgezeit gelangte man aber doch zu der Auffassung, daß den bisherigen nassen wie auch den trockenen Methoden als solchen eine Reihe von Mängeln anhaftete.

Sehr kennzeichnend für den Wandel der Anschauungen und zugleich für die sprunghafte Entwicklung der experimentellen mikro-

chemischen Forschung des letzten Jahrzehnts ist eine einfache Gegenüberstellung zweier Literaturzitate aus den Jahren 1929 und 1935:

„Man wird daher immer wieder versuchen, eine Verbrennung auf nassem Wege durchzuführen. ... Der Vorteil der Apparatur liegt in ihrer Einfachheit ... und in der Möglichkeit, zwei Bestimmungen in etwa 3 Stunden zu erledigen." (K. Voit: Zur Methodik der C-Bestimmung im Harn. 1929.) — „Von Nachteil ist es, wenigstens für den Kliniker, daß alle diese Methoden recht kompliziert und umständlich sind, so daß sie eigentlich nur in der Hand eines auf diesem Gebiete ganz besonders erfahrenen Forschers bzw. einer Hilfskraft, die über außergewöhnliche Kenntnisse in der Elementaranalyse verfügt, brauchbare Resultate ergeben." (Lauersen und Voit: Zur Methodik der Kohlenstoffbestimmung in biologischen Flüssigkeiten. 1935.)

Man war also innerhalb weniger Jahre dazu gelangt, einen ganz erheblich schärferen Maßstab in Hinsicht auf die methodische Brauchbarkeit anzulegen!

Was die Verbrennung auf nassem Wege besonders unvorteilhaft erscheinen ließ, war der Umstand, daß dabei sowohl an Reagentien wie an Apparaturbestandteilen ein wesentlich größerer Aufwand erforderlich war, als bei der alleinigen Verwendung des Pregl'schen Verbrennungsröhrchens im Rahmen des trockenen Verfahrens. Gegen dieses wiederum konnte man mit Recht einwenden, daß aus dem Mißverhältnis von Wasser zu Kohlendioxyd in Verbindung mit der gravimetrischen Bestimmung sich nur zu leicht Fehlermöglichkeiten ergeben können. Ließ es sich doch nicht von der Hand weisen, daß ein solches Mißverhältnis selbst dann noch bestehen blieb, wenn das Blutfiltrat an Stelle der früher von Pregl bzw. Stepp vorgeschriebenen 10- bzw. 7-fachen, jetzt einer nur mehr 4-fachen Verdünnung auf Grund der Enteiweißungsmethode unterworfen wurde. Denn auch in diesem Falle stand das Kohlendioxyd zum Wasser immer noch im Verhältnis von 1 : 625!

Diese Bedenken wurden aber mit einem Schlage gegenstandslos, als man die gravimetrische durch die titrimetrische Bestimmungs-

weise ersetzte. Da es ja hier nicht auf die Gewichtszunahme ankam und man für die C-Absorption ohnehin ein wässeriges Medium (Barytwasser) benutzte, brauchte jetzt das Wasser nicht getrennt abgefangen zu werden und spielte das Verhältnis des Wassers zum dioxyd überhaupt keine Rolle.

Von dieser Ueberlegung ausgehend, stellten Lauersen und Voit im Jahre 1935 die Methodik der Kohlenstoffbestimmung auf neue Grundlagen: Aus der Synthese der Mikroverbrennung nach Pregl und des maßanalytischen Titrationsverfahrens (erstmals von Pettenkofer angegeben), entstand eine Halbmikromethode, die außer dem oben genannten Vorzug noch eine Reihe anderer Vorteile in sich schließt. Die Ausführung einer Titration erfordert bei weitem nicht die Zeit, aber auch nicht so viel Uebung und Erfahrung, wie das Arbeiten an der Mikrowaage. Mit der abgekürzten und vereinfachten Handhabung wächst der Anwendungsbereich der Methode, was auch gerade der Durchführbarkeit von Reihenbestimmungen zugute kommt. Ferner ist die Möglichkeit gegeben, mit einem und demselben Verfahren sowohl Blut- wie Harn-C-Bestimmungen vorzunehmen. Die anwendbare Flüssigkeitsmenge wird nicht durch das Verhältnis $H_2O$ zu $CO_2$ begrenzt, sondern durch das Absorptionsvermögen der vorgelegten Barytlauge, deren Konzentration je nach der zu erwartenden $CO_2$-Menge variierbar ist. Man kann somit leicht die 8- bis 10-fache Menge Flüssigkeit und darüber anwenden, also statt 0,1 jetzt 0,8 bis 1,0 ccm und mehr Blutfiltrat und ebenso auch Harn, das heißt, bei Benutzung der Halbmikromethodik kommt man einerseits immer noch mit verhältnismäßig geringen Blutmengen aus, so daß wiederholte C-Bestimmungen am gleichen Tage und am selben Patienten ebenso wie bei der reinen Mikromethode möglich bleiben; auf der anderen Seite ist eine anwendbare Harnmenge wohl kleiner als bei der reinen Makromethode, jedoch ist im Harn die C-Menge so erheblich, daß sich hier keine analytischen Schwierigkeiten ergeben.

Seit der Veröffentlichung von Lauersen und Voit im Sommer 1935 hat die eingehende Beschäftigung mit dem neu ausgearbeiteten Verfahren gezeigt, daß unbeschadet der exakt analytischen Genauig-

keit noch weitere Vereinfachungen bezüglich Apparatur und Arbeitsgang möglich sind. Diese selst im einzelnen auseinanderzusetzen und gegenüber der Methode von 1935 Punkt für Punkt darzulegen, soll zweckmäßig dem Schlusse der Arbeit vorbehalten bleiben. Im folgenden soll zunächst die Methode in der Gestalt, wie sie nunmehr vorliegt, rein als solche abgehandelt werden.

## III. Die von uns ausgearbeitete Methode.

### *1. Prinzip.*

Innerhalb eines Verbrennungsrohres wird im $CO_2$-freien Luftstrome durch elektrische Beheizung vorerst die zu untersuchende Flüssigkeit in einem Porzellanschiffchen zur Trockne verdampft, alsdann die organische Substanz an glühendem Kupferoxyd vollständig verbrannt; die entstandene Kohlensäure wird in einem abgemessenen Volumen Barytlauge aufgefangen und die Menge des Kohlenstoffs durch Titration mit Salzsäure bestimmt.

### *2. Die Apparatur.*

Die Apparatur setzt sich im wesentlichen aus 7 Bestandteilen zusammen. Es sind dies:

1. Natronkalk-Turm,
2. Blasen-Zähler,
3. Bajonett-Rohr,
4. Ofen mit Vergasungs-Spulen,
5. 1 Paar Vorlage-Gefäße mit Einleitungsröhrchen,
6. Präzisions-Quetschhahn,
7. 1 Paar Unterdruck-Flaschen.

Die Verbindung der Einzelteile wird durch Gummischläuche hergestellt. Dazu kommen noch ein Porzellanschiffchen, ein Kupferdrahtnetz-Zylinder und einige verschieden lange Asbest-Kupfernetzdächer.

Die nachstehenden Ausführungen bringen wir im Interesse eines guten Verständnisses und einer vorschriftsmäßigen Durchführung der ganzen Methodik. Wenn wir dabei auch auf manche, zunächst unwesentlich erscheinende Punkte eingehen, so deshalb, weil es sich gezeigt hat, daß deren Nichtbeachtung doch beträchtlichen Zeitverlust und unnötige Mühewaltung nach sich ziehen kann.

Zu 1:

Der Natronkalkturm wird in folgender Weise vorbereitet: Nachdem der Flaschenboden mit einer lockeren Schicht Watte bedeckt worden ist, muß vor der weiteren Füllung zunächst der obere Abschluß, ein doppelt durchbohrter Gummistopfen, hergerichtet werden. Durch die nach außen zu gelegene Durchbohrung wird ein rechtwinklig abgebogenes kürzeres Glasröhrchen, durch die zentrale Durchbohrung ein längeres gerades durchgeführt. Auf die außen befindlichen Enden der Glasröhrchen werden Gummischläuche aufgesetzt. Der Schlauch über dem geraden Röhrchen dient bei ruhender Apparatur zur Fernhaltung der Außenluft mittels Klemme, der Gummischlauch am gebogenen Röhrchen zur Verbindung mit dem Blasenzähler.

Durch Benetzung mit etwas Glyzerin muß das lange Röhrchen leicht in der Gummidurchbohrung verschieblich bleiben; es kommt mit seiner unteren Oeffnung schon während der Auffüllung des Turmes mit Natronkalk lose auf die Wattelage zu stehen, um nicht gleich verstopft zu werden. Man gibt so den Natronkalk ringsum um das zentral gehaltene gerade Röhrchen in den Turm, zu oberst wieder eine Wattelage und verschließt dann, indem man den Gummistopfen entlang dem Glasröhrchen hinunterschiebt.

Zu 2:

Der Tropfenzähler wird mit halbgesättigtem Barytwasser zu einem Drittel aufgefüllt und zwischen dem Natronkalkturm und dem Bajonettrohr eingeschaltet; die Verbindung wird nach beiden Seiten durch Gummischläuche hergestellt.

Zu 3:

Das Bajonettrohr besteht aus Supremax-Glas, hat eine Länge von 65 cm, einen inneren Durchmesser von 1 cm, trägt am Anfangsteile einen bajonettförmigen Ansatz und läuft in ein verjüngtes Ende aus. Gefüllt wird es mit Kupferoxyd, dazu Silberwolle und Platinasbest; anschließend wird es ausgeglüht und streckenweise reduziert.

Da in erster Linie von einer vorschriftsmäßig ausgeführten Rohrfüllung das Gelingen einer Kohlenstoffbestimmung abhängt, ist eine ausführlichere Beschreibung am Platze:

Man benötigt außer den Füllmaterialien einen runden Glasstab, der das Lumen des Bajonettrohres knapp ausfüllt und etwas länger als dieses ist, dazu einen Führungsdraht mit hakenförmigem Ende.

Als erstes führt man locker in Walzenform gebrachte Silberwolle ein, so daß sie die vordersten 2 cm des Rohres am verjüngten Ende ausfüllt. Sodann schüttet man einige Flöckchen Asbest als Trennschicht darüber und achtet darauf, dieses mit dem nachdrückenden Glasstabe nur gerade eben locker der Silberwolle aufliegen zu lassen. Zweckmäßig überzeugt man sich bei jeder neuen Schicht durch Ansaugen am ausgezogenen Rohrende, ob der Luftstrom noch leicht hindurchgeht, andernfalls hat man zu fest gestopft und muß die Schicht nochmals entfernen.

Jetzt folgt als Hauptbestandteil der Füllung Kupferoxyd in Drahtform, und zwar gibt man so viel hinein, daß 35 cm des Rohres damit angefüllt werden. Da diese Strecke ziemlich lang ist, schüttet man das Kupferoxyd nicht auf einmal hinein, sondern immer nur etwa 5 cm, hält dann das Rohr senkrecht und klopft einige Male mit der anderen Hand dagegen, um auf die Art die Einzelteilchen gut aufsitzen zu lassen. Da jetzt durch das Kupferoxyd die Rohrwände verstaubt sind, ist es nötig, vor Einbringung der nächsten Schichten das Rohr mit Watte sauber auszuwischen. In gleicher Weise locker gestopft folgen nun wieder eine Schicht Asbest, sodann abermals 2 cm Silberwolle, nochmal eine Trennschicht Asbest und endlich 1 cm Platinasbest.

Alsdann muß das Rohr ausgeglüht werden. Die Apparatur wird dazu wie bei der eigentlichen Verbrennung zusammengesetzt, nur werden nicht zwei Vorlagegefäße eingeschaltet, sondern zunächst ein mit Wasser gefülltes, das so lange gegen ein neues mit Barytwasser ausgewechselt wird, bis keinerlei Trübung mehr auftritt, was nach etwa einer halben Stunde der Fall ist.

Anschließend ist ein Teil der Kupferoxydfüllung zu reduzieren. Die Ausdehnung bemißt sich zweckmäßig nach der Länge einer Heizspule. Der Endabschnitt des Rohres, soweit er sich außerhalb des Ofens befindet, soll etwas mehr als zwei Heizspulenlängen betragen. Dasjenige Kupferoxyd, das zunächst dem Ofen gelegen ist, wird in einer Heizspulenlänge (ca. 5,5 cm) reduziert:

Man verschließt den Rohranfang mittels Gummistopfen, verbindet den Bajonettansatz mit einem Kipp-Apparat, schiebt vom anderen Ende her eine Heizspule bis vor den Ofen, läßt Wasserstoff hindurch und nimmt

zuerst die Prüfung auf Knallgas vor. Man hält ein Reagenzglas über die Rohrmündung, fängt damit eine Probe des Gases ab, bringt ein brennendes Streichholz vor die Reagenzglasmündung und wiederholt das so lange, bis man sich überzeugt hat, daß kein Knallgas mehr vorhanden ist. Erst wenn dies der Fall ist, wird die Vergasungsspule angeheizt, so lange, bis die Strecke unter ihr zu Kupfer reduziert ist. Nach dem Abschalten und Abkühlen wird die Spule bis 2 cm vor das verjüngte Rohrende zurückgesetzt und behält ihren Platz, um jeweils am Schlusse einer Verbrennung kurz angeheizt zu werden, während der reduzierte Abschnitt zwischen Ofen und Spule lediglich indirekt mittels eines aufgelegten Kupfernetzdaches geheizt wird.

Zu 4:

Der Ofen mit Vergasungsspulen wird elektrisch betrieben und zweckmäßig in doppelter Ausführung auf ein gemeinsames Schaltbrett montiert. Die vordere Spule ist auf Gleitschienen verschieblich aufgesetzt und belastet infolgedessen nicht das Verbrennungsrohr, das sonst bei den hohen Temperaturen sich leicht durchbiegen würde.

Zu 5:

Die Absorptionsgefäße sind zur Aufnahme des Barytwassers bestimmt, werden auf einem Stativ paarweise hintereinandergeschaltet und tragen doppelt durchbohrte Stopfen. Jedes Gefäß gliedert sich in einen unteren weiten Abschnitt, welcher vor der Verbrennung die erforderliche Menge Barytwassers aufnimmt, einen engen Halsteil mit Marke zur genauen Auffüllung von 50 ccm nach der Verbrennung und in einen oberen Abschnitt, dessen Mündung im Durchmesser dem einzusetzenden Gummistopfen genau angepaßt sein muß. Durch den Stopfen führen zwei rechtwinklig abgebogene Glasröhrchen, von denen das eine fast bis auf den Boden des Gefäßes hinabreicht, das andere kurz nach dem Durchtritt durch den Gummi endet. Bei Einbringung des Stopfens muß man peinlichst darauf bedacht sein, ihn absolut luftdicht mit der Gefäßwand abschließen zu lassen; man setzt ihn deshalb nicht einfach auf, sondern muß ihn durch drehende Bewegungen gewissermaßen in die Mündung hineinschrauben. Bei der Apparatur muß das lange Röhrchen immer dem Ofen zugewandt sein. Auch hier bilden Gummischläuche die Verbindungsstücke.

Zu 6:

Der Präzisions-Quetschhahn drosselt das Lumen des Verbindungsschlauches zwischen dem zweiten Vorlagegefäß und der Unterdruckflasche. Man leitet von hier aus die Strömungsgeschwindigkeit des Luftstroms in dem System, kenntlich an den aufperlenden Blasen im Barytwasser.

Zu 7:

Die Unterdruckflaschen sollen einen nicht zu kleinen Rauminhalt haben (mindestens 40 Liter), damit jede für sich unter allen Umständen für die Dauer einer Bestimmung voll ausreicht. Als Verschluß wird am besten ein Dreiweghahn angebracht, so daß man außer der Zuleitung zum System bzw. während des Evakuierens zur Wasserstrahlpumpe gleichzeitig noch eine Anschlußmöglichkeit zu einem Manometer hat und sich so über die verfügbaren Reserven unterrichten kann.

### 3. Gang der Kohlenstoffbestimmung.

#### a) Vorarbeiten.

Bevor man eine Kohlenstoffbestimmung in Angriff nimmt, sind eine Reihe von Vorarbeiten zu erledigen. Dazu gehören:

α) Bereitstellung einer passenden Barytwasserlösung.

β) Füllung der Vorlagegefäße.

γ) Evakuieren der Unterdruckflaschen.

Zu a:

Die Herstellung des Barytwassers erfolgt in der Weise, daß man aus einer Vorratsflasche, in der man ständig über einigen 100 g reinen Bariumhydroxyds eine gesättigte Lösung zur Verfügung hat; nach Absetzung der Trübung durch das ausgeschiedene Bariumkarbonat die klare Lösung in eine zweite Vorratsflasche abhebert. Beide Flaschen sind mit einem doppelt durchbohrten Stopfen für ein Heberohr und ein Natronkalkrohr versehen.

Die Konzentration der vorzulegenden Barytwasserlösung richtet sich einmal nach der Menge Kohlenstoff, die man jeweils zu erwarten hat, sodann nach dem Gesichtspunkte der zweckmäßigsten Titration. Die dazu notwendigen Berechnungen haben also grundlegende Bedeutung und seien deswegen im folgenden eingehender erläutert.

Wie schon erwähnt, sind die Vorlagegefäße auf ein Fassungsvermögen von 50,0 ccm berechnet. Wenn man von der Ueberlegung ausgeht, daß an und für sich bei den verhältnismäßig kleinen zu erwartenden C-Mengen auch nur entsprechend geringe Mengen Barytwassers zur Absorption nötig sind, so wäre zunächst der Einwand berechtigt, warum nicht Vorlagegefäße für 10,0 ccm zum Beispiel genügten. Darauf wäre zu sagen, daß der Grund für die Wahl der 50,0 ccm-Vorlagegefäße in der Notwendigkeit liegt, den sogen. Pipettierfehler zu berücksichtigen. Das einzige Mittel, diesen möglichst auszuschalten, bildet das Arbeiten mit genügend großen Flüssigkeitsmengen. Man hat folglich so vorzugehen, daß man eine Barytwasserlösung herstellt, die innerhalb eines 50,0 ccm-Vorlagegefäßes die jeweils benötigte Menge gesättigten Barytwassers vorzulegen gestattet. Zu diesem Zweck ist folgende Berechnung aufzustellen:

Als Ausgangswert habe ich zur Verfügung:

$$1{,}0 \text{ ccm n/100 HCl} = 0{,}06 \text{ mg C};$$

daraus ergibt sich umgekehrt:

$$1 \text{ mg C} = 16{,}67 \text{ ccm n/100 HCl}.$$

Um nun zu erfahren, wieviel 1 mg C an Barytwasser zur Absorption benötigt, setze ich eine bestimmte Menge gesättigten Barytwassers in Beziehung zu n 100 HCl, indem ich zum Beispiel 1,0 ccm $Ba(OH)_2$ abmesse und gegen n/100 HCl titriere. So stelle ich etwa fest:

1,0 ccm $Ba(OH)_2$ = 37,0 ccm n/100 HCl; daraus umgekehrt
1,0 ccm n/100 HCl = 1/37 ccm $Ba(OH)_2$. Setze ich nun
1,0 mg C = rund 17,0 ccm n/100 HCl (s. o.), so folgt
1,0 mg C = 17/37 ccm $Ba(OH)_2$.

Da immer ein Ueberschuß Barytlauge vorhanden sein muß, um sicher allen Kohlenstoff zu binden, legt man etwa die 5-fache Menge vor, so daß hiernach für 1,0 mg C 5mal 17/37 = rund 2 ccm $Ba(OH)_2$ zu rechnen wären. Um auch hier den Pipettierfehler zu vermeiden, wird man sich zweckmäßig einer Barytwasserlösung 1:10 bedienen (z. B. 100,0 ccm $Ba(OH)_2$ auf 1000,0 ccm aqua dest.). Somit ergibt sich schließlich, daß man zur Bindung von 1,0 mg C 20,0 ccm einer 1:10 verdünnten Barytlösung mittels Pipette in das Absorptionsgefäß vorzulegen hat.

Welche Mengen Kohlenstoff sind nun im einzelnen zu erwarten? Das richtet sich nach Art und Menge der biologischen Flüssigkeit (Blut bzw. Harn), die für eine Einzelbestimmung angewendet wird.

Bei der Blut-C-Bestimmung verwendet man am zweckmäßigsten 1,0 ccm eines Filtrats von der Verdünnung 1:4. Bei einem angenommenen C-Wert von 180,0 mg % hätte man demnach zu rechnen:

100,0 ccm Blut = 180,0 mg C
1,0 ccm Blut = 1,8 mg C
1,0 ccm Filtrat (1:4) = 0,25 ccm Blut $= \frac{1 \cdot 8}{4} = 0{,}45$ mg C.

Für Normalfälle sind somit bis rund 0,5 mg C zu erwarten, für pathologische bis etwa 1,2 mg.

Für Harn lauten die entsprechenden Werte:
Angewandte Menge im allgemeinen nicht über 0,5 ccm. Normaler C-Gehalt: 400—1000 mg%. Mithin zu erwarten: 2,0 bis 5,0 mg C, darunter und darüber bis 10,0 mg in pathologischen Fällen. Dementsprechend ist nun die Barytwasservorlage zu wählen.

Unter Zugrundelegung eines Wertes (s. o.) von 1,0 ccm $Ba(OH)_2$ = 37,0 ccm n/100 HCl, wonach — wie oben ausgeführt — 1,0 mg C 20,0 ccm einer Barytlösung 1:10 entspricht, ergibt sich folgende Gebrauchsvorschrift:

| | Angewandte Menge ccm | darin zu erwarten Kohlenstoff mg | entsprechend n/100 HCl ccm | Ba(OH)2-Lösung | | HCl | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | anzusetzen Verdünnung | vorzulegen ccm | n/100 ccm | n/10 ccm |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Blutfiltrat (1:4) | 1.0 | 0.2 - 0.5 | 3 - 8 | 1 : 10 | 10.0 | ca. 15.0 | |
| | 1.0 | 0.5 - 1.0 | 8 - 17 | 1 : 10 | 20.0 | ca. 30.0 | |
| Harn | 0.5 | 1.0 - 2.0 | 17 - 35 | 1 : 10 | 40.0 | | ca. 6.0 |
| | 0.5 | 2.0 - 5.0 | 35 - 85 | 1 : 2.5 | 20.0 | | ca. 12.0 |
| | 0.5 | 5.0 - 10.0 | 85 - 165 | 1 : 2 | 40.0 | | ca. 30.0 |

Zu Spalte 4: Die Verdünnung 1:10 kann bei den Harn-C-Bestimmungen deswegen nicht beibehalten werden, weil die Vorlagemenge durch das Fassungsvermögen des Absorptionsgefäßes begrenzt ist, d. h. stets unter 50,0 ccm bleiben muß.

Zu Spalte 6 und 7: Die Werte sind dazugesetzt, damit man zugleich einen Anhalt dafür hat, wieviel ccm HCl später beim Titrieren vorzulegen sind; es ist dabei von der Annahme ausgegangen, daß man jeweils 20,0 ccm aus dem 50,0 ccm-Vorlagegefäß zur Titration entnimmt; man behält so die Möglichkeit, notfalls aus dem gleichen Gefäß noch eine zweite Titration vorzunehmen. Diesen Werten liegt folgende Berechnung zugrunde (vgl. erste Reihe):

Es sei angenommen, daß für 0,5 mg C 10,0 ccm einer Barytlösung 1:10 vorgelegt worden sind. Diese 10,0 ccm sind in dem Vorlagegefäß, das nach beendigter Verbrennung mit Wasser bis 50,0 ccm aufgefüllt worden ist, enthalten. Werden 20,0 ccm daraus entnommen, so sind darin $^2/_5$ von der vorgelegten Barytlösung 1:10 = 4,0 ccm enthalten, d. h. auf gesättigtes $Ba(OH)_2$ umgerechnet: 0,4 ccm.

1,0 ccm $Ba(OH)_2$ entsprach nun 37,0 n/100 HCl, folglich sind 0,4 ccm $Ba(OH)_2$ 0,4 mal 37 = 14,8 oder rund 15,0 ccm n/100 HCl.

Auch hier ist für die Harn-C-Titration eine Aenderung notwendig insofern, als mit einer n/10 statt mit einer n/100 HCl-Lösung zu arbeiten ist,, weil der Fehler, der durch das zu häufige Ablassen mit der 10,0ccm-Bürette entsteht, mehr ausmachen würde, als der Pipettierfehler, der durch die höhere Konzentration der n/10-Lösung bedingt ist.

Zu β:

Die Vorlagegefäße werden in Leerwertgefäße und die eigentlichen Absorptionsgefäße eingeteilt, diese werden paarweise numeriert. Als Leerwertgefäße sind mindestens zwei vorzusehen, und zwar am besten das

zuerst und das zuletzt zu füllende. Von den übrigen sind immer je 4 (z. B. Nr. 1 a, 1 b, 2 a, 2 b) mit der gleichen Vorlage zu beschicken, da man genauigkeitshalber immer Doppelbestimmungen ausführen wird. Hier, wie überhaupt beim Umgang mit Barytwasser, ist peinlichst darauf zu achten, daß keine längere Einwirkung der Luftkohlensäure auf die Barytlösung statthat. Zu diesem Zwecke hat für jede Füllungsserie die Bereitstellung eines besonderen — 500 bis 1000 ccm fassenden — Standgefäßes mit zweifach durchbohrtem Stopfen zu erfolgen, das man ebenso wie die Vorratsflaschen armiert, nur daß an Stelle des Heberohrs ein gerades, mit Gummischlauch und Klemmenverschluß tritt. Man füllt aus der zweiten Vorratsflasche die benötigte Menge Barytlösung in das Standgefäß ab und entnimmt nun hieraus entsprechend den erwarteten C-Mengen (vergl. Tabelle) mit den entsprechend gewählten Pipetten die Barytlösung für die Vorlagegefäße, und zwar ist sie zu so viel Kubikzentimeter abgekochten destillierten Wassers zu geben, daß der Gesamtinhalt im Vorlagegefäß ca. 40 ccm ausmacht.

Auch hier ist auf die atmosphärische Kohlensäure Bedacht zu nehmen und muß deswegen die Füllung der Leerwert- und Hauptgefäße hintereinander in einem Arbeitsgange erfolgen; auf diese Weise ist dann Vorsorge getroffen, daß eine mögliche Einwirkung der Luftkohlensäure auf die einzelnen Portionen die gleiche ist.

Die Gefäße werden bis zur Indienststellung bei der Verbrennung mit Gummistopfen dicht verschlossen gehalten.

## b) Verbrennung.

Die Durchführung einer Verbrennung gestaltet sich folgendermaßen: Die Klemme über dem Luftzuführungsrohr des Natronkalkturmes wird abgenommen. Ein Paar Vorlagegefäße werden mit Einleitungsröhrchen versehen und in die Apparatur eingeschaltet; die verbindenden Gummischläuche sind in der Länge so zu wählen, daß die Röhrchen untereinander bzw. zum verjüngten Ende des Verbrennungsrohres hin „Glas auf Glas" anschließen.

Die zu untersuchende Flüssigkeit wird mittels Pipette in ein Porzellanschiffchen gegeben, dieses sodann vorsichtig in den Anfangsteil des Verbrennungsrohres eingeschoben, bis es noch 1.5 cm vom Ofen entfernt ist. Die Rohrmündung wird mit einem Gummistopfen verschlossen.

Nunmehr wird probeweise der Luftstrom in Gang gesetzt durch langsames Lockern des Präzisions-Quetschhahnes. Man faßt währenddessen scharf beide Vorlagegefäße ins Auge und prüft, ob bei langsamem Durchströmen die Blasen in beiden Gefäßen genau gleichzeitig durchperlen. Diese Dichtigkeitsprüfung vor Beginn der Verbrennung ist zur Vermeidung von Fehlresultaten unerläßlich und darf nie vergessen werden; auch darf man sich die Mühe nicht verdrießen lassen, bei festgestellter Undichtigkeit die Vorlagegefäße noch ein- oder mehrere Male herauszunehmen und die Stopfen mit den Einleitungsröhrchen so lange einzupassen, bis sie einwandfrei dicht schließen.

Erst jetzt schaltet man den elektrischen Heizstrom an und läßt zunächst die Luft ziemlich lebhaft durchperlen. Die Erwärmung des Schiffchens erfolgt in dieser ersten Phase indirekt, das heißt die Vergasungsspule befindet sich hierbei noch nicht im Bereich des Schiffchens, sondern v o r diesem; der Abschnitt des Verbrennungsrohres, der von dem Schiffchen eingenommen wird, ist lediglich mit einem Asbest-Kupfernetzdach überdeckt, das mit dem einen Ende bis an den Ofen und mit dem anderen Ende an die Vergasungsspule heranreicht und so miterwärmt wird. Ein zweites, kürzeres Dach wird auf der anderen Seite an die Heizspule herangeschoben, um später an die Stelle des längeren Daches zu treten. Mit dem Eintritt des

Siedepunktes ist bei ungenügender Saugwirkung die Gefahr des Zurückschlagens des Wasserdampfes gegeben. Man darf also zu diesem Zeitpunkte die Mikroschraube nicht aus den Fingern lassen, um gegebenenfalls — wenn eine Verlangsamung im Blasenzähler erkennbar wird — unverzüglich durch Lockern des Hahnes die nötigen Unterdruckreserven einsetzen zu können. Wenn man nicht mehr als 0,5 ccm im Schiffchen hat, ist die Uebertreibung des Wassers in ca. 10 Minuten durchgeführt, und man kann nunmehr, um die organische Substanz zu verbrennen, zur direkten Heizung (zweite Phase) übergehen.

Zu diesem Zweck ist zunächst die Strömungsgeschwindigkeit zu regulieren dergestalt, daß von jetzt ab nur mehr soviel Blasen im Zähler durchperlen, daß man sie noch gut mitzählen kann, d. h. nicht mehr als 3 bis 4 in der Sekunde. Dieses Tempo ist durch entsprechende Stellung des Präzisions-Quetschhahnes ganz gleichmäßig beizubehalten, bis unter der nach und nach übergeschobenen Vergasungsspule die Kohle bis auf die letzte Spur verbrannt ist. Anschließend setzt man sicherheitshalber die Vergasungsspule noch einmal zurück und glüht die ganze Strecke ein zweites Mal kurz aus, worauf man den Heizstrom abschaltet. Die Zeit für diese zweite Phase ist mit 20 Minuten anzusetzen.

Für die Dauer der dritten Phase (10 Minuten) wird der Präzisions-Quetschhahn wie zu Anfang gestellt, und man läßt so bei lebhafter Durchströmungsgeschwindigkeit die restliche Kohlensäure quantitativ übergehen.

Zum Schluß drosselt man das Tempo wieder auf langsame Blasenfolge, entfernt dann den Gummistopfen und löst unmittelbar anschließend die Vorlagegefäße aus ihren Gummiverbindungen.

### c) Auffüllen der Absorptionsgefäße.

Es folgt nun die Auffüllung der Gefäße auf 50 ccm. Man benötigt hierzu ein erhöht angebrachtes Standgefäß mit abgekochtem destilliertem Wasser, welches man vom unteren Teile des Gefäßes entnehmen kann. Hier ist ein Gummischlauch angeschlossen, der einen Quetschhahn und am Ende ein Glaskapillarröhrchen trägt. Mittels

dieser Vorrichtung werden zuerst die Einleitungsröhrchen außen, dann innen abgespült, so daß dabei das Wasser quantitativ ins Vorlagegefäß einfließt, alsdann werden unter Fixierung des Gefäßhalsteiles in Augenhöhe noch soviel Tropfen destillierten Wassers zugegeben, bis der untere Meniskus haarscharf genau in die Höhe der Marke 50 steht. Darauf verschließt man mit Gummistopfen, mischt gut durch, indem man die Gefäße mehrmals über die Längsachse kippt und stellt sie beiseite. Bis sich das Bariumkarbonat abgesetzt hat, ist eine Zeitspanne von mindestens 6 Stunden erforderlich; alsdann ist die überstehende klare Flüssigkeit zum Austitrieren verwendbar.

### d) Titration.

Für die Brauchbarkeit der Methode im klinischen Betrieb bedeutet die Einführung des Titrationsverfahrens anstelle des Hantierens mit der Mikrowaage einen Vorzug, der hier ganz besonders in Erscheinung tritt. Die eingangs aufgeführten Bedingungen für ein klinisch brauchbares Verfahren sind hier durchwegs erfüllt. Die Titration ist einfach ausführbar, beansprucht nur geringe Zeit und läßt dabei, was die Genauigkeit betrifft, nichts zu wünschen übrig. Hierzu wirken im wesentlichen zusammen einmal die Benützung von n/100-Lösungen, und zwar aus Mikrobüretten mit automatischer Nullpunkteinstellung, sodann die Verwendung des Mischindikators nach Tashiro, mittels dessen der Umschlagspunkt auf einen Tropfen genau bestimmbar ist. Schließlich sei noch eines erwähnt: die Gefäße, mit denen man arbeitet, müssen zuvor sorgfältigst gesäubert sein. So genügt es nach unseren Erfahrungen nicht, mit verdünnter Salzsäure und destilliertem Wasser zu reinigen — erst dann ließ sich die wünschenswerte Genauigkeit der Analysenresultate erzielen, nachdem sowohl die Vorlagegefäße wie die Titrierkölbchen unmittelbar vor Gebrauch mit kohlensäurefreiem, also abgekochtem aqua dest. noch einmal gründlich ausgeschwenkt, ferner die Pipetten zuvor 24 Stunden in eine Chromschwefelsäurelösung gestellt worden waren.

Zur Titration entnimmt man aus den Leerwert- und Absorptionsgefäßen jedesmal 20 ccm mit geeichter Pipette und gibt sie in ein

Erlenmeyer-Kölbchen zu einer abgemessenen Menge (siehe Tabelle S. 25) n/100 HCl und 8 Tropfen Mischindikator. Es soll immer von vornherein ein Ueberschuß an Salzsäure vorhanden sein, um die Einwirkung der Luftkohlensäure auszuschalten. Wenn sich bei kräftigem Umschwenken deutliche Rotfärbung eingestellt hat, titriert man aus einer Bürette mit n/100 NaOH zurück, bis die Farbe auf eben grün umschlägt.

## IV. Analysenergebnisse.

### *1. Oxalsäure.*

Zur Prüfung der Methode wurden Lösungen von Oxalsäure verwandt. Die Fehlergrenze betrug bei Verwendung einer n/1 Lösung 0,8 %. Wenn die gefundenen Werte (Tabelle 1) hier fast durchweg etwas höher liegen, als dem berechneten C-Gehalt entspricht, so ist der Grund dafür in einer geringen Anreicherung der verwendeten Oxalsäurelösung mit Kohlensäure aus der Luft anzunehmen.

Tabelle 1.

| Substanz | ccm angew. | mg C | | Fehler % |
|---|---|---|---|---|
| | | ber. | gef. | |
| Oxalsäurelösung | 0,5 | 6,00 | 5,98 | —0,3 |
| „ | 0,5 | 6,00 | 6,10 | +1,7 |
| „ | 0,5 | 6,00 | 6,02 | +0,3 |
| „ | 0,5 | 6,00 | 6,05 | +0,8 |
| | | | | 0,8 |

Stellt man andererseits die Fehlergrenze bezogen auf den Mittelwert aus mehreren Bestimmungen einer Serie fest, also ohne Rücksicht auf den berechneten Wert der Lösung, so ist der Fehler noch etwas geringer:

Tabelle 2.

| ccm der Lösung angewandt | mg C | | Fehler % |
|---|---|---|---|
| | gef. | Mittel | |
| 0,5 | 5,98 | | —1,0 |
| 0,5 | 6,10 | | +1,0 |
| 0,5 | 6,02 | 6,04 | —0,3 |
| 0,5 | 6,05 | | +0,2 |
| | | | 0,6 |

Beim Arbeiten mit Lösungen, die weniger als 1 mg C in der angewandten Menge erhalten, wird der prozentuale Fehler natur-

gemäß größer. Nahmen wir zum Beispiel eine Oxalsäurelösung von annähernd n/10-Konzentration, so ließ sich dabei aus einer Serie von 6 Bestimmungen (je 0,5 ccm angewandt) ein mittlerer Fehler von 1,8 % erreichen bei einer größten Abweichung von —3,8 % gegen den Mittelwert:

Tabelle 3.

| mg C | | Fehler |
|---|---|---|
| gef. | Mittel | % |
| 0,535 | | + 3,1 |
| 0,528 | | + 1,7 |
| 0,499 | 0,519 | —3,8 |
| 0,513 | | —1,2 |
| 0,521 | | + 0,4 |
| 0,516 | | —0,6 |
| | | 1,8 |

*2. Rest-Kohlenstoff und Harn-Kohlenstoff.*

Entsprechend der Kohlenstoffkonzentration liegt die erreichbare Fehlergrenze nun auch bei Anwendung biologischen Untersuchungsmaterials verschieden hoch. Wenn man bedenkt, daß der prozentuale Rest-C-Gehalt des Blutes zum Kohlenstoffgehalt des Harns annähernd im Verhältnis 1 : 10 steht, so ist es verständlich, daß der Fehler bei Bestimmungen des Rest-Kohlenstoffs größer ausfallen muß als bei solchen des Harn-Kohlenstoffs. Es wurde jeweils der mittlere Fehler aus Parallelbestimmungen von Blut-Kohlenstoff und Harn-Kohlenstoff festgestellt und dann die Durchschnittsfehlergrenze errechnet. Angewandt wurden Mengen von 0,8 ccm Blutfiltrat 1:4 (entsprechend 0,2 ccm Blut) und 0,2—0,5 ccm Harn. Da es uns im Rahmen der vorliegenden Abhandlung in erster Linie darum zu tun war, die Zuverlässigkeit der Methode unter Beweis zu stellen, haben wir Rest-C-Bestimmungen in größerem Umfange nicht vorgenommen, so daß die vorliegenden Resultate einen Schluß auf die Höhe des Rest-Kohlenstoffs in normalen und pathologischen Fällen und dementsprechend des ungedeckten Anteils noch nicht erlauben.

Tabelle 4.

Restkohlenstoff.

| Alter Jahre | Geschlecht | Diagnose | mg % Rest-C | | Fehler % |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Doppelbest. | Mittelwert | |
| 77 | ♀ | Apoplexie | 198 | 195 | 1,5 |
| | | | 192 | | |
| 70 | ♀ | Apoplexie | 206 | 204,5 | 0,7 |
| | | | 203 | | |
| 34 | ♂ | Normalfall | 135 | 134,5 | 0,4 |
| | | | 134 | | |
| | | | | | 0,9 |

Tabelle 5.

Harn-Kohlenstoff (Normalfälle).

| Anzahl der Einzelbestimmungen | mg % C | | Fehler % |
|---|---|---|---|
| | Parallelbestimmung | Mittelwert | |
| 1 | 1653 | | |
| 2 | 1668 | 1657 | 0,7 |
| 3 | 1639 | | |
| 4 | 1669 | | |
| 1 | 1579 | 1572 | 0,4 |
| 2 | 1565 | | |
| 1 | 1235 | 1241 | 0,5 |
| 2 | 1247 | | |
| 1 | 1175 | 1174 | 0,2 |
| 2 | 1172 | | |
| 1 | 1143 | 1139 | 0,4 |
| 2 | 1135 | | |
| | | | 0,4 |

### 3. C:N-Quotient.

Im Zuge der Harn-Kohlenstoffprüfungen wurde gleichzeitig der Stickstoff im Harn bestimmt, so daß sich Aufschlüsse über den C:N-Quotienten ergaben. An drei Tagen kam der gesamte ausgeschiedene Harn zur Untersuchung, jedoch in 3 getrennten Portionen, nämlich die 12-Stunden-Menge des Nachturins und der Tagurin für sich nochmals aufgeteils in je eine 6-Stunden-Portion für Vormittag (7—13 Uhr) und Nachmittag (13—19 Uhr). Wie die nachstehend aufgeführten Daten zeigen, ergab sich bei dieser Versuchsanordnung die überraschende Tatsache, daß der C:N-Quotient für 24 Stunden bei einer Schwankungsbreite von 0,77—0,92 zwar einen Mittelwert von 0,83 aufweist und darin — ob zufällig oder nicht, bleibe dahingestellt — mit den Angaben in der Literatur genau übereinstimmt, daß andererseits aber die Quotienten bei Unterteilung ganz erheblich variieren, nämlich zwischen 0,55 und 1,05! Die Werte wurden aus Selbstversuchen bei frei gewählter Kost im Winter errechnet:

Tabelle 6.

| Zeit | Harn ccm | g C | g N | C:N |
|---|---|---|---|---|
| 19— 7 Uhr | 310 | 6,63 | 6,85 | 0,97 |
| 7—13 Uhr | 210 | 3,30 | 3,15 | 1,05 |
| 13—19 Uhr | 400 | 4,40 | 7,24 | 0,61 |
| 24 Stunden | 920 | 14,33 | 17,24 | 0,83 |
| 19— 7 Uhr | 450 | 5,58 | 7,61 | 0,73 |
| 7—13 Uhr | 390 | 4,76 | 4,68 | 1,02 |
| 13—19 Uhr | 195 | 2,20 | 4,00 | 0,55 |
| 24 Stunden | 1035 | 12,54 | 16,29 | 0,77 |
| 19— 7 Uhr | 220 | 3,19 | 3,54 | 0,90 |
| 7—13 Uhr | 245 | 2,28 | 2,57 | 0,89 |
| 13—19 Uhr | 240 | 2,73 | 2,74 | 1,00 |
| 24 Stunden | 705 | 8,10 | 8,85 | 0,92 |
| | | | | 0,83 |

Die Ursache dieser auffälligen Schwankungen ist unseres Erachtens in dem Rhythmus des intermediären Stoffwechsels zu erblicken. Immerhin ist unseres Wissens bisher noch nicht auf diese Tatsache aufmerksam gemacht worden. Sie zeigt jedenfalls eindringlich, wie wichtig es ist, bei Untersuchungen zum C:N-Quotienten stets den gesamten 24-Stunden-Urin zugrunde zu legen, da unter diesen Umständen sich irgendwelche Verluste angesichts des schwankenden Quotienten der verschiedenen Tagesportionen doch ganz beträchtlich auf die Höhe des Gesamtquotienten auswirken können.

## V. Vergleichende Betrachtung.

*Vorzüge der umgestalteten Methodik gegenüber dem Verfahren Lauersen-Voit.*

Wie schon im ersten Teile der Arbeit angedeutet, ist an der Methode Lauersen-Voit eine weitgehende Umgestaltung vorgenommen worden, die in einer Verminderung der Apparaturteile und einer Vereinfachung und Verbesserung des Arbeitsganges zum Ausdruck gekommen ist. Nachdem nunmehr oben das abgeänderte Verfahren für sich veranschaulicht worden ist, soll jetzt eine vergleichende Betrachtung im einzelnen die Vorzüge der neuen Methodik herausstellen:

1. Der Aufbau eines Gasometers an dem einen und eines Aspirators an dem anderen Ende des Systems fällt fort, da es sich gezeigt hat, daß man die Durchströmung besser mit Unterdruck als mit Ueberdruck leiten kann. Die Druckmengen nämlich, welche durch das Abtropfen aus dem Aspiratorgefäß verfügbar werden, haben sich als zu gering erwiesen. Eine Saugvorrichtung in Gestalt einer Unterdruckflasche gibt jetzt die Gewähr dafür, daß man immer genügend Druckreserven zur Verfügung hat, zudem bietet sie den Vorteil, keinen besonderen Platz auf dem Arbeitstische selbst wegzunehmen, da sie neben oder unter ihm auf dem Fußboden aufgestellt wird.
2. Desgleichen hat sich die doppelte Anbringung von Präzisions-Quetschhähnen als überflüssig erwiesen; es genügt nunmehr der eine am Schluß der Apparatur, da man in der Tat von diesem Hahn aus genügend das Tempo der Durchströmung einstellen kann und somit allein durch eine einzige Mikroschraube die ganze Verbrennung in der Hand hat. Infolge dieser beiden Einsparungen wird die Apparatur, wie sie in der Arbeit von Lauersen und Voit beschrieben ist, noch um weitere zwei Bestandteile vermindert und erhält damit eine Zusammensetzung, die noch mehr zu vereinfachen kaum gelingen dürfte. Wohl aber sind noch Vereinfachungen an den Einzelteilen selber denkbar. Demzufolge wurden weitere Modifikationen ausgearbeitet, und zwar:

3. Ein Trockenapparat im eigentlichen Sinne ist nicht notwendig, denn für die Zwecke einer reinen Kohlenstoffbestimmung kommt es allein darauf an, die Kohlensäure der Luft abzufangen. Man braucht also nicht zweierlei Materialien (Calciumchlorid und Natronasbest) vorzulegen, sondern es genügt statt dessen ein Natronkalkturm.

4. Blasenzähler und Luft-$CO_2$-Absorptionsapparat werden gegenüber der Lauersen-Voit'schen Anordnung zweckmäßig in umgekehrter Reihenfolge in das System eingeschaltet, außerdem wird als Blasenzähler-Flüssigkeit die 50 %ige NaOH-Lösung durch halbkonzentriertes Barytwasser ersetzt. Damit ist an dieser Stelle eine Kontrolle nicht nur für die Luftdurchströmungsgeschwindigkeit geschaffen, sondern zugleich für die Funktionstüchtigkeit des Natronkalkturmes: Mit dem Augenblick, in dem dieser erschöpft ist, muß sich das automatisch in einer Trübung des Barytwassers anzeigen.

5. Ganz besonders sinnfällig tritt das Ausmaß der Einsparungsgestaltung bei der Beschickung des Verbrennungsrohres in Erscheinung, zumal wenn man sich die komplizierte Schichtfolge nach der ursprünglichen Pregl'schen Vorschrift vor Augen hält. Für die Auswahl der Füllsubstanzen war von der Erwägung auszugehen, daß es sich bei biologischen Flüssigkeiten allgemein nicht um schwer verbrennbare Stoffe handelt und andererseits eine zu starke Oxydationswirkung sogar unerwünscht ist, weil dann zu befürchten steht, daß dabei auch der Stickstoff unnötigerweise mitoxydieren könnte, der dann nachher durch die Kupferschicht wieder zu reduzieren wäre. Infolgedessen konnte man für die Kohlenstoffbestimmung im wesentlichen auf das alte Liebig'sche Verfahren der Verbrennung mittels Kupferoxyd zurückgreifen und demgemäß das stark oxydierende Bleichromat entbehren. Jedoch schien es vorteilhaft, zur Beschleunigung der Verbrennung als Katalysator eine Schicht Platinasbest, außerdem vor und nach der Kupferoxydschicht einen Pfropf aus Silberwolle vorzulegen, um flüchtig gehende Halogene zu binden. Zur Vermeidung etwaiger $CO_2$-Verluste, die vielleicht noch in Spuren Kondenswassers im Rohrende gelöst

sein könnten, dient die zweite Vergasungsspule, die nach Schluß der Verbrennung kurz angeheizt wird und so im Verein mit der jetzt ausreichend erzielbaren Durchströmungsgeschwindigkeit die Gewähr bietet, auch die letzten Spuren von unter Umständen kondensiertem Wasser mit überzutreiben. Damit erübrigt sich auch das Vorgehen einer besonderen für diesen Zweck gedachten Silberspirale im verjüngten Rohrende. Nachfolgende Uebersicht zeigt die Unterschiede im einzelnen:

Materialien für die

| alte Füllung: | neue Füllung: |
|---|---|
| 1. Platinasbest | 1. Platinasbest |
| 2. Silberwolle | 2. Silberwolle |
| 3. Grobes Kupferoxyd | 3. Kupferoxyd Drahtform |
| 4. Reduziertes Kupferoxyd | 4. Reduziertes Kupferoxyd Drahtform |
| 5. Feines Kupferoxyd | |
| 6. Bleichromat | |
| 7. Silberdraht | |

6. Eine weitgehende Veränderung haben endlich auch die Vorlagegefäße samt Einleitungsröhrchen erfahren. Da es beim Auffüllen auf 50 ccm erwünscht ist, daß der Meniskus möglichst klein ausfällt, ist das Vorlagegefäß jetzt derart gestaltet, daß die Marke (50 ccm) nunmehr im Bereiche eines möglichst eng ausgezogenen Halsteiles zu liegen kommt, dessen Durchmesser so klein gehalten ist, wie es die Notwendigkeit des hindurchführenden Einleitungsröhrchens eben zuläßt. Dieses selbst ist insofern einfacher gestaltet, als es gegenüber dem früheren Modell keinen Glockenteil aufweist. Da die Vorlagegefäße jetzt fast doppelt so hoch sind als die alten Zentrifugengläser und damit die Wegstrecke für die $CO_2$-Blasen genügend lang ausfällt, ist es nicht mehr notwendig, die Durchleitung der Gasblasen auf einem Umwege — über Glockenflächen — vorzunehmen.

## VI. Zusammenfassung.

1. Es werden im vorstehenden die Grundlagen und Methoden der Kohlenstoffbestimmung in biologischen Flüssigkeiten kritisch gewertet.

2. Geschildert wird eine Methode, die eine Modifikation des von Lauersen und Voit angegebenen Verfahrens darstellt und zur C-Bestimmung in Blut und Harn Flüssigkeitsmengen von 0,1 bis 1,0 ccm und darüber anzuwenden erlaubt. Es handelt sich um eine Halbmikromethode, welcher die C-Ermittlung durch eine Verbrennung auf trockenem Wege verbunden mit der titrimetrischen Bestimmung zugrunde liegt. Besonders eingegangen wird auf methodisch-apparative Einzelheiten, die für die exakte Durchführung der Bestimmungen wichtig erscheinen.

---

Herrn Professor Dr. W. Stepp möchte ich auch an dieser Stelle für die gütige Ueberlassung des Themas und die Uebernahme des Referates meinen verbindlichsten Dank aussprechen. Herrn Dr. F. Lauersen bin ich für seine entgegenkommende Unterstützung bei Ausführung der Arbeit und für seine wertvollen Ratschläge zu besonderem Dank verpflichtet.

## LITERATUR.


Diehl, F.: Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol., 44. Jg. München 1935.

Diehl, F. u. Lauersen, F.: Ztschr. f. d. ges. exper. Med. **96,** S. 625 (1935).

Hinsberg, K. u. Lang, K.: Medizinische Chemie. Berlin u. Wien 1938.

Imhäuser, K.: Ztschr. f. d. ges. exper. Med. **82,** 552 (1932).

Lauersen, F.: Biochem. Ztschr. **280,** 38 (1935).

— Mikrochemie, Neue Folge (im Druck).

Lauersen, F. u. Voit, K.: Biochem. Ztschr. **280,** 276 (1935).

Neubauer u. Huppert: Analyse des Harns. Wiesbaden 1910.

Stepp, W.: Ergebnisse der Physiologie **19,** 290 (1921).

— Münch. med. Wschr. 1919, Nr. 28, 771.

— Med. Klin. 1931, Nr. 15, S. 531.

— Ztschr. f. physiol. Chem. **235,** 273 (1935).

Stepp, W. u. Sauer, J.: Dtsch. Arch. f. klin. Med. **165,** 223 (1929).

Voit, K.: Biochem. Ztschr. **215,** 418 (1929).

— Dtsch. Arch. f. klin. Med. **166,** 87 (1930).

— Ztschr. f. klin. Med. **114,** 289 (1930).

— Ztschr. f. klin. Med. **126,** 230 (1933).

— Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol., 44. Jg., München 1935.

## LEBENSLAUF.

Ich, Wilhelm Gustav Hartwig Boldt, wurde am 17. März 1904 als Sohn des Militär-Intendantur-Assessors Johann Wilhelm Bruno Boldt und seiner Ehefrau Olga Wilhelmine Erna, geb. Stettin, zu Münster in Westfalen geboren. Ich besuchte die Volksschule in Erfurt, die Vorschulen des Conradinums in Danzig-Langfuhr und des Gymnasiums in Allenstein, darauf die Gymnasialanstalten in Allenstein, Kolberg, Köslin, Kolberg, Allenstein und Stettin. Nach insgesamt siebenmaligem Schulwechsel — durch Versetzungen und Kriegsteilnahme meines Vaters, Russeneinfall in Ostpreußen und Nachkriegswirren bedingt — bestand ich mit 17 Jahren am 22. 2. 1922 die Reifeprüfung am König-Wilhelms-Gymnasium zu Stettin.

Anschließend studierte ich zunächst Jura, dann Medizin an den Universitäten Freiburg i. Br., München, Berlin, Heidelberg und Königsberg/Pr.

Im Sommer 1925 diente ich mit der Waffe beim Infanterie-Regiment 6 in Schwerin in Mecklenburg, ab 1. 4. 1928 als Sanitätsoffizieranwärter beim Infanterie-Regiment 5 in Greifswald in Vorpommern. Im Sommer 1927 bestand ich in Heidelberg das Physikum, am 29. 6. 1931 zu Königsberg/Pr. die ärztliche Prüfung. Das praktische Jahr leistete ich als Unterarzt im Standortlazarett Berlin-Tempelhof ab.

Vom 1. 7. 1932 bis 31. 1. 1937 war ich aktiver Sanitätsoffizier, als Truppenarzt in Potsdam und als Truppenarzt und Standortarzt in Tübingen, ab 1. 7. 1935 war ich als Stabsarzt zur I. Medizinischen Universitätsklinik (Professor Dr. W. Stepp) kommandiert. Mit dem 31. 1. 1937 schied ich aus dem Heeressanitätsdienste aus und betätigte mich in der Folgezeit als Stationsarzt und im Chemischen Forschungslaboratorium der I. Medizinischen Klinik München, sowie in der Chirurgischen Universitäts- und der Universitäts-Frauen-Klinik München.